



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARIANA MORAIS SÁ

**ASPERGILOSE INVASIVA: DIAGNÓSTICO CLÍNICO, LABORATORIAL E
TERAPÊUTICA PRECONIZADA**

JOÃO PESSOA - PB
2018

MARIANA MORAIS SÁ

**ASPERGILOSE INVASIVA: DIAGNÓSTICO CLÍNICO, LABORATORIAL E
TERAPÊUTICA PRECONIZADA**

Trabalho de conclusão de curso
submetido à Universidade Federal da
Paraíba como parte dos requisitos básicos
necessários para a obtenção do Grau de
Bacharel em Farmácia.

Orientador:

**Prof. Dr. Felipe Queiroga Sarmiento
Guerra**

JOÃO PESSOA - PB
2018

S111a Sá, Mariana Morais.

Aspergilose invasiva: diagnóstico clínico, laboratorial e terapêutica preconizada / Mariana Morais Sá. -- João Pessoa, 2018.

51f. : il. -

Orientador : Felipe Queiroga Sarmiento Guerra.
Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

1. Aspergillus spp. 2. Aspergilose invasiva. 3. Aspectos clínicos. 4. Diagnóstico.
5. Terapêutica. 6. Farmácia.

BS/CCS/UFPB

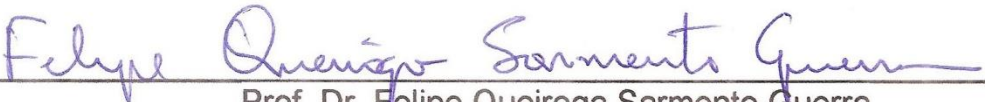
CDU: 582.282.123.4(043.2)


Mariana Moraes Sá

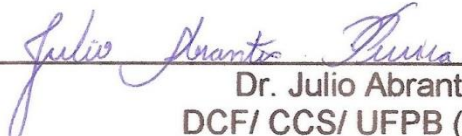
**Aspergilose Invasiva: Diagnóstico clínico, laboratorial e terapêutica
preconizada**

Trabalho de conclusão de curso
submetido à Universidade Federal
da Paraíba como parte dos
requisitos básicos necessários para
a obtenção do Grau de Bacharel em
Farmácia.

Aprovado em: 04 / 06 / 18


Prof. Dr. Felipe Queiroga Sarmiento Guerra
DCF/ CCS/ UFPB (ORIENTADOR)


Prof.^a Dr.^a Fabíola Bernardo Carneiro
DCF/ CCS/ UFPB (1º MEMBRO)


Dr. Julio Abrantes Pereira
DCF/ CCS/ UFPB (2º MEMBRO)

João Pessoa- PB

2018

À minha mãe Rita, uma mulher de força, que me inspira e me apóia todos os dias.

À minha filha Julia, uma menina doce, que me impulsiona a buscar melhor versão de mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me sustentar nos momentos mais difíceis, por me proporcionar saúde e disposição para que eu possa lutar por meus objetivos.

Aos meus pais, Rita de Cássia e Antonio de Pádua pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Em especial a minha mãe, a quem eu amo incondicionalmente, uma mulher forte e guerreira, obrigada por toda dedicação, por todo amor e por tudo que me proporciona até hoje. Sem você, eu nada seria.

À minha filha Julia, que é a representação do amor de Deus por mim. A pessoa mais importante da minha vida. Você é responsável pela mulher que me tornei, foi você que me ensinou o verdadeiro significado de amor. Por você eu vivo, respiro e luto todas as batalhas sem baixar a cabeça. Por você que tento ser melhor cada dia. Você que é meu tesouro. Minha flor. Minha menina, a quem tanto amo.

Aos meus irmãos, não sei o que seria da minha vida sem eles, por isso agradeço-os. Rodrigo, Luana, Rafaella e Alexandre, obrigada por toda a alegria e companheirismo. A minha cunhada, que se tornou minha irmã, Jullyana, obrigada por sempre estar presente na minha vida. Luana, Rafaella e Jullyana, vocês três são inspiração pra mim, cada uma da sua forma. Obrigada de coração por sempre me ajudar, aconselhar, mimar e incentivar. Amo vocês.

Ao meu professor e orientador Felipe Queiroga, agradeço especialmente por ser paciente e sempre me acalmar quando me encontrava em desespero por não saber como prosseguir. A sua dedicação e orientação foram fundamentais para a construção desse trabalho. Obrigada por estar sempre disponível para me ajudar quando eu recorria.

Aos meus professores ao longo do curso, grandes mestres que sempre me ajudaram tanto na formação profissional quanto na construção pessoal, onde carrego parte da minha gratidão e conhecimentos que vão além dos muros da Universidade.

À minhas amigas, Jessyca Marina (que me inspirou na escolha do curso), Ana Carla e Nathalia, que juntas desde a época do colégio pudemos viver muitos momentos felizes e tristes. Que sempre estiveram perto e dispostas a oferecer um abraço. Amo vocês meninas!

À minha turma 2011.1, em especial Mayara Pessoa, Allana Dantas, Eduarda Malheiros, Andrezza Dantas e João Vitor, mesmo em meio às dificuldades do curso, estivemos sempre juntos nos divertindo. As turmas Farmuído e Farmundiça que me acolheram após o tempo que estive afastada. Danielly Araújo e Gildevan Santos que tanto escutaram meus choros, por vezes sem nem saber que eu derramava lágrimas do outro lado do telefone, sempre dispostos a ajudar. Vocês juntamente com Vanessa Rangel, Vitória Gama, Talita Oliveira, Giuliana Amanda, Sabine Dantas, Lisandra Fernandes, Arthur Pontes, Larisse Silva, Vanessa Lima, Gabriela Alvarenga, foram pessoas maravilhosas comigo e cada um de uma forma me ajudou e apoiou quando as coisas estavam um pouco pesadas. Obrigada de coração!

Aos demais familiares e amigos que não foram citados, mas que sempre estão presentes na minha vida e cada um com sua particularidade contribuíram de forma importante para a conclusão desse curso e da pessoa que me tornei.

*“Demore o tempo que for para decidir o que
você quer da vida, e depois que decidir não
recue ante nenhum pretexto, porque o
mundo tentará te dissuadir.”*

Friedrich Nietzsche

RESUMO

A aspergilose, infecção causada por espécies de fungo do gênero *Aspergillus*, tem emergido como uma doença de elevada importância ao nível das unidades de cuidados intensivos nos hospitais, sendo a aspergilose invasiva, a doença que apresenta níveis mais altos de mortalidade e morbidade. O gênero *Aspergillus* encontra-se distribuído mundialmente e em vários habitats, sem predileção geográfica. A espécie *A. fumigatus* é o agente etiológico responsável por aproximadamente 90% dos casos de aspergilose. A aspergilose compreende um grande espectro de doenças, no qual esta pode se manifestar de diversas formas, tanto por meio de doenças alérgicas, como por formas cavitárias crônicas ou ainda pode se manifestar como doença invasiva. A aspergilose invasiva é considerada uma infecção fúngica oportunista, progressiva, aguda e severa, de mau prognóstico com o maior risco de vida em doentes imunodeprimidos ou que são sujeitos a terapêuticas extremamente agressivas pelo uso de corticóides, antibióticos e drogas imunossupressoras, assim como em casos de agranulocitose prolongada. A aspergilose invasiva é de difícil diagnóstico, seus sintomas e sinais clínicos são inespecíficos, estes aparecem já num estado tardio da infecção, fazendo com que diagnóstico precoce seja de grande importância. É de grande importância que o tratamento seja iniciado o mais rapidamente possível, gerando assim um melhor prognóstico. O voriconazol é o medicamento recomendado como terapia de primeira linha, pois mostrou ter melhor eficácia e tolerância em comparação com a anfotericina B.

Palavras-chave: *Aspergillus* spp. Aspergilose invasiva. Aspectos clínicos. Diagnóstico. Terapêutica.

ABSTRACT

Aspergillosis, an infection caused by *Aspergillus* species, has emerged as a major disease at the level of intensive care units in hospitals, being invasive aspergillosis, the disease that presents higher levels of mortality and morbidity. The genus *Aspergillus* is distributed world-wide and in several habitats, without geographic preference. *A. fumigatus* is the etiological agent responsible for approximately 90% of cases of aspergillosis. Aspergillosis comprises a wide spectrum of diseases, in which it can manifest itself in a variety of forms, either through allergic diseases or chronic cavitary forms, or it may manifest itself as an invasive disease. Invasive aspergillosis is considered to be an opportunistic, progressive, acute and severe fungal infection of poor prognosis with a higher risk of life in immunosuppressed patients or who are subjected to extremely aggressive therapies by the use of corticosteroids, antibiotics and immunosuppressive drugs, as well as in cases of prolonged agranulocytosis. Invasive aspergillosis is difficult to diagnose, its symptoms and clinical signs are nonspecific, they appear already in a late stage of the infection, making early diagnosis very important. It is of great importance that the treatment be started as soon as possible, thus generating a better prognosis. Voriconazole is the recommended drug as first-line therapy because it has been shown to have better efficacy and tolerance compared to amphotericin B.

Key words: *Aspergillus* spp. Invasive Aspergillosis. Clinical Aspects. Diagnosis. Therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Conidióforos de (a) <i>Aspergillus clavatus</i> (unisseriado) e (b) <i>Aspergillus flavus</i> (bisseriado).	16
Figura 2 - Microscopia de <i>Aspergillus glaucus</i>	17
Figura 3 - Esquema mostrando a integração de diferentes características que podem ser combinadas para uma classificação taxonômica polifásica de uma espécie de <i>Aspergillus</i>	18
Figura 4 - Cultura de <i>Aspergillus fumigatus</i>	19
Figura 5 - Cultura de <i>Aspergillus flavus</i>	20
Figura 6 - Cultura de <i>Aspergillus niger</i>	22
Figura 7 - Estrutura química da Anfotericina B.....	35
Figura 8 - Estrutura química do Voriconazol	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AI	Aspergilose invasiva
AMB	Anfotericina B
API	Aspergilose pulmonar invasiva
CZ	Ágar Czapek
GM	Galactomanana
PCR	Reação em cadeia da polimerase
SNC	Sistema nervoso central
TCAR	Tomografia computadorizada de alta resolução
TNF- α	Fator de necrose tumoral – α

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	OBJETIVOS	13
2.1.	Geral	13
2.2.	Específicos.....	13
3.	METODOLOGIA	14
4.	REVISÃO NARRATIVA	15
4.1	Etiologia e taxonomia	15
4.1.1	<i>Aspergillus</i> seção <i>fumigati</i>	18
4.1.2	<i>Aspergillus</i> seção <i>flavi</i>	20
4.1.3	<i>Aspergillus</i> seção <i>nigri</i>	21
4.2	Aspectos epidemiológicos	22
4.3	Patogenia	23
4.3.1	Fatores de virulência.....	24
4.3.2	Fatores de risco do hospedeiro	26
4.4	Aspectos clínicos	27
4.5	Diagnóstico	30
4.5.1	Diagnóstico laboratorial	32
4.5.2	Diagnóstico por Imagem.....	34
4.6	Aspectos terapêuticos	34
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
	REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

A Micologia compreende um vasto campo de estudo, envolvendo micro-organismos conhecidos por fungos e leveduras (OLIVEIRA, 2014). Ao longo do tempo, mais de 100.000 espécies de fungos foram reconhecidas e descritas. Contudo, menos de 500 destas espécies têm sido relacionadas com doenças em humanos, e não mais do que 100 espécies são capazes de causar infecção em indivíduos saudáveis. O restante só é capaz de provocar doença em indivíduos debilitados ou imunocomprometidos (KAUFFMAN et al., 2011).

No entanto, devido ao prolongamento da sobrevivência de pacientes com múltiplos fatores de risco para infecções fúngicas, tais como transplante de células-tronco hematopoiéticas, transplante de órgãos sólidos, novos agentes quimioterápicos e imunossupressores, o número de infecções fúngicas sistêmicas aumentou aproximadamente 207% nas últimas décadas (LAI et al., 2008; ALANGADEN, 2011; APERIS; ALIVANIS, 2011; ROBBINS et al., 2011). Dentre as quais, as de origem hospitalar são as de maior importância, pois seu aumento progressivo tem contribuído para uma maior elevação das taxas de morbidade e mortalidade (MARTINS-DINIZ et al., 2005).

A aspergilose, infecção causada por espécies de fungo do gênero *Aspergillus*, tem emergido como uma doença de elevada importância ao nível das unidades de cuidados intensivos nos hospitais, sendo a aspergilose invasiva, a doença que apresenta níveis mais altos de mortalidade e morbidade (MEERSSEMAN et al., 2007).

O gênero *Aspergillus* apresenta cerca de 339 espécies aceitas (SAMSON et al., 2014), estando amplamente distribuído na natureza, particularmente no ar, material orgânico em decomposição, solo, água, alimentos, superfícies e sistemas de ventilação. Somado a sua ampla distribuição, os fungos do gênero *Aspergillus* apresentam conidiogênese enteroblástica tipo fialídica, possuindo alta capacidade de esporulação. No ar atmosférico encontramos em torno de 1-100 conídios por m³ (BULPA et al., 2007).

A inalação de esporos de *Aspergillus* é o modo habitual do homem desenvolver a infecção, sendo o período de incubação ainda desconhecido. Nos pulmões os esporos originam hifas que podem invadir os tecidos próximos ou mesmo outros órgãos, contudo, as consequências da inalação destes esporos

dependem essencialmente do estado imunológico dos indivíduos (PARTRIDGE-HINCKLEY et al., 2009; ASKEW; KONTOYIANNIS; CLEMONS, 2014).

Em pessoas imunocompetentes após a inalação dos conídios pelo hospedeiro, normalmente, os esporos são eliminados pela atividade de macrófagos alveolares, onde este processo ocorre frequentemente sem prejuízo à homeostase corporal ou manifestação de sintomas específicos (GUAZZELLI et al., 2012; BARBERÁN; MENSA, 2014).

Em pacientes imunocomprometidos a inalação de esporos dos fungos pode ocasionar doenças pulmonares que vão desde a inflamação local das vias aéreas a infecções pulmonares graves com risco de vida, tais como aspergilose broncopulmonar alérgica e aspergilose invasiva (BEISSWENGER et al., 2012).

A aspergilose compreende um grande espectro de doenças, no qual esta pode se manifestar de diversas formas, tanto por meio de doenças alérgicas, (rinossinusite fúngica alérgica, aspergilose broncopulmonar alérgica, asma grave com hipersensibilidade a fungos e alveolite alérgica extrínseca), como por formas cavitárias crônicas (que habitualmente envolve pacientes imunocompetentes que possuem dano estrutural prévio ao parênquima pulmonar) ou ainda pode se manifestar como doença invasiva (que pode evoluir rapidamente ou apresentar curso subagudo ou mesmo crônico, a depender da imunidade do paciente). (DENNING, 2010, WINGARD; HSU, 2010). Nos últimos anos, existe uma grande preocupação acerca da aspergilose invasiva, uma vez que, a sua ocorrência tem aumentado, particularmente em indivíduos com o sistema imunitário gravemente comprometido (PAULUSSEN et al., 2016).

A aspergilose invasiva é considerada uma infecção fúngica oportunista, progressiva, aguda e severa, de mau prognóstico com o maior risco de vida em doentes imunodeprimidos ou que são sujeitos a terapêuticas extremamente agressivas pelo uso de corticóides, antibióticos e drogas imunossupressoras, assim como em casos de agranulocitose prolongada, sendo que a sua forma mais comum é a aspergilose invasiva pulmonar que é caracterizada pela proliferação de formas aspergilaes no parênquima pulmonar (RAJA; SINGH, 2006; DAGENAIS; KELLER, 2009; KOUSHA; TADI; SOUBANI 2011; KOSMIDIS; DENNING, 2015). Ainda é possível ocorrer disseminação do fungo a partir dos pulmões para o trato gastrointestinal, os rins, o cérebro, o fígado, ou outros órgãos, originando abscessos e lesões necróticas (PERSON et al., 2010).

A aspergilose invasiva é de difícil diagnóstico, seus sintomas e sinais clínicos são inespecíficos, estes aparecem já num estado tardio da infecção, fazendo com que diagnóstico precoce seja de grande importância. O aparecimento de febre persistente, único sinal de infecção, e a existência de sintomas inespecíficos ou atenuados em resultado da medicação à base de corticosteróides, dificultam o diagnóstico, devido à falta de um método de diagnóstico capaz de identificar o fungo responsável pela infecção, o tratamento não é feito no tempo adequado, o que pode estar associado às elevadas taxas de mortalidade, sendo o diagnóstico confirmado pela autópsia (DIMOPOULOS et al., 2010).

Quando não tratada apropriadamente, a aspergilose pulmonar invasiva pode se agravar facilmente, acarretando disseminação para o sistema nervoso central, coração, veias ou outras estruturas próximas ao pulmão (ALDERSON et al., 2005; CADENA et al., 2016).

Na aspergilose pulmonar invasiva, é de grande importância que o tratamento seja iniciado o mais rapidamente possível, gerando assim um melhor prognóstico (CADENA et al., 2016). O voriconazol é o medicamento recomendado como terapia de primeira linha, pois mostrou ter melhor eficácia e tolerância em comparação com a anfotericina B (BADDLEY et al., 2013; JACOBS et al., 2011).

Diante do que foi abordado acima, há uma grande preocupação por parte dos profissionais de saúde acerca das infecções invasivas, uma vez que a taxa de mortalidade é alta e ainda existe um atraso nas formas de diagnóstico que sejam verdadeiramente efetivas. Tem-se disponível, atualmente, poucos estudos de revisão acerca do tema tratado, porém, diante do que foi exposto, entende-se o quão importante é o conhecimento sobre aspergilose invasiva e sobre os fatores que cercam essa doença, como modo de contaminação, fatores de risco, diagnóstico e tratamento; desta forma, torna-se necessário a realização frequente de estudos de revisão atuais sobre o tema abordado.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

- Realizar uma revisão bibliográfica acerca dos fatores clínicos, laboratoriais e terapêuticos da aspergilose invasiva.

2.2 ESPECÍFICOS

- Descrever os aspectos etiológicos e epidemiológicos do gênero *Aspergillus*;
- Discorrer sobre as características clínicas da aspergilose invasiva;
- Delinear os métodos diagnósticos e terapêuticos atualizados da aspergilose invasiva;

3. METODOLOGIA

Esta pesquisa caracteriza-se como uma revisão narrativa, onde os critérios utilizados para a busca e para a análise crítica da literatura não são explícitos e sistemáticos. A revisão narrativa permite a obtenção e atualização sobre o conhecimento de um determinado tema em breve espaço de tempo; porém, não possui uma metodologia que viabilize uma reprodução dos dados e nem traz respostas quantitativas para determinados questionamentos (ROTHER, 2007).

Os critérios de inclusão que foram definidos para seleção dos estudos desta revisão narrativa foram: teses, livros e artigos científicos sobre o tema disponíveis em bancos de dados e sites de busca, produções com idioma em português e inglês, além de publicações entre os anos de 2007 a 2017.

Como critérios de exclusão dos artigos, foram excluídos capítulos de livros, dissertações, teses e artigos científicos que não disponibilizassem o texto na íntegra online e que não abrangessem o tema proposto e período designado.

O presente estudo teve como questão norteadora: “Quais os diversos fatores que estão relacionados com a aspergilose invasiva?”. O levantamento bibliográfico foi realizado no período compreendido entre os meses de janeiro a abril de 2018.

Os termos utilizados para a busca dos artigos foram: aspergilose, aspectos clínicos, diagnóstico, epidemiologia, tratamento. E suas respectivas traduções para o inglês: Aspergillosis, clinical aspects, diagnosis, epidemiology, treatment.

4. REVISÃO NARRATIVA

4.1 Etiologia e taxonomia

O gênero *Aspergillus* é provavelmente o grupo de fungos mais corriqueiro no ambiente humano, sendo habitual a exposição das pessoas aos seus esporos (CABRAL et al., 2009). As espécies que compõem este gênero são fungos filamentosos descritos como cosmopolitas, saprófitas, de distribuição mundial e que podem ser encontrados em ambientes muito diversificados, sendo capazes de colonizar diversos substratos e podem ser isolados do solo, água, vegetação, material em decomposição e ar. (FERNANDES, 2012; PRAKASH; JHA, 2014; SAMSON et al., 2014).

O gênero *Aspergillus* situa-se no Reino *Fungi*, filo *Ascomycota*, ordem *Eurotiales* e família *Trichocomaceae*. Este gênero é composto por cerca de 339 espécies, destas cerca de 20 são consideradas potencialmente patogênicas causando infecções oportunistas no homem (SAMSON et al., 2014; PRAKASH; JHA, 2014). *Aspergillus fumigatus* é o agente etiológico que surge em primeiro lugar como maior responsável pelas aspergiloses invasivas diagnosticadas, e é seguido por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* e menos frequentemente por *Aspergillus nidulans* (BINDER; LASS-FLÖRL, 2013; PAULUSSEN et al., 2016).

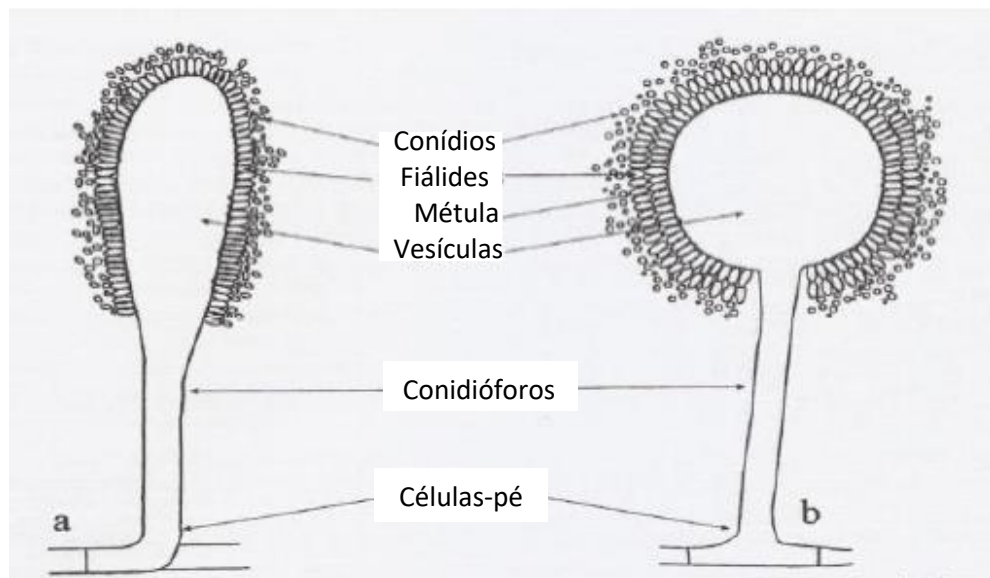
Normalmente, a identificação de fungos filamentosos é realizada de acordo com a morfologia apresentada, sendo assim, a identificação de *Aspergillus* é baseada na avaliação de sua macromorfologia e micromorfologia, observando suas características como: coloração da colônia, pigmentação do meio de cultura, taxa de crescimento micelial, textura da colônia e estruturas produtoras de esporos (BALAJEE; MARR, 2006; BALAJEE et al., 2007).

Relativo ao aspecto macroscópico a principal característica para a diferenciação de *Aspergillus* spp. é a coloração das colônias, onde estas apresentam uma superfície de cor branca, na fase inicial de maturação, e a depender da espécie, a sua cor pode evoluir para vários tons de verde, amarelo, marrom, branco, preto ou cinza. No seu anverso apresentam-se geralmente nas cores branca, dourada ou acastanhada. A textura da colônia surge algodonosa, tornando-se pulverulenta ou arenosa com a produção de esporos, os quais podem apresentar rugosidade da parede, característica igualmente importante na

identificação de espécie (KLICH, 2002; LACAZ et al., 2002; SIDRIM; ROCHA, 2004; MURRAY et al., 2010).

Na observação microscópica, estes fungos apresentam hifas septadas, hialinas, com ramificações dicotômicas formando ângulos de 45°, onde estão presentes as estruturas de reprodução assexuada (conídios), situadas no topo de uma vesícula terminal que surge a partir do prolongamento do conidióforo. A vesícula é coberta por uma ou duas camadas de células especializadas e conídios, que são formados assexuadamente e em cadeias interconectadas. Estas células que formam os conídios são chamadas de células conidiogênicas ou fiálides, e sua conidiogênese é do tipo blástica fialídica. Quando a fiálide está inserida diretamente na vesícula, então é chamado *Aspergillus* unisseriado (figura 1). Se ocorrer uma segunda camada de células interligando a fiálide a vesícula, o *Aspergillus* é referido como bisseriado e, esta é denominada métula (figura 1). (KLICH, 2002; MINAMI, 2003; MURRAY et al, 2010; GUARRO; XAVIER; SEVERO, 2010).

Figura 1 - Conidióforos de (a) *Aspergillus clavatus* (unisseriado) e (b) *Aspergillus flavus* (bisseriado).



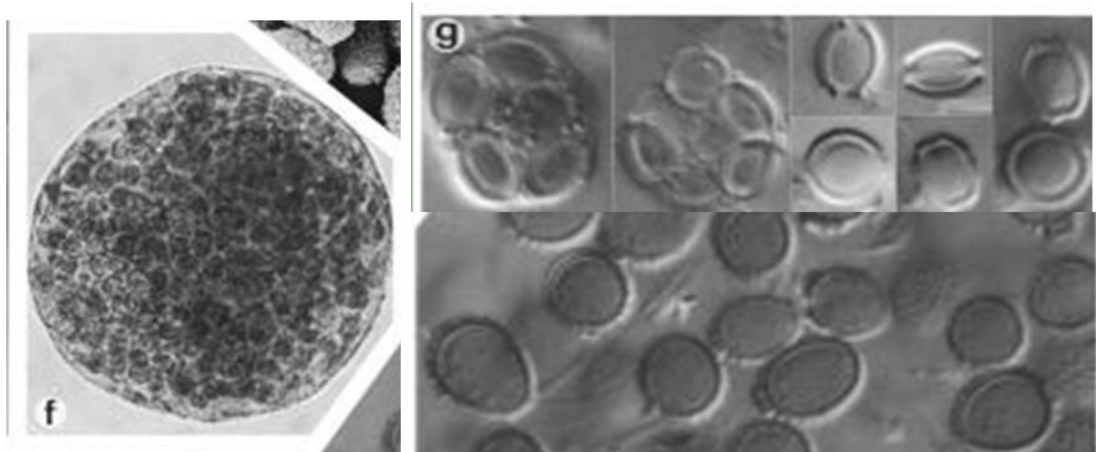
Fonte: adaptado de Klich (2002).

A reprodução das espécies de *Aspergillus* se dá majoritariamente de forma assexuada, sendo assim, é a sua forma de reprodução assexuada cuja morfologia é muito característica que permite a sua identificação microscópica, a qual é baseada

na morfologia de estruturas reprodutivas assexuais. Observa-se características como tamanho e forma da cabeça conidial, vesícula, arranjo dos conídios no exterior da vesícula, presença e forma de fiálides unisseriadas ou bisseriadas, além do tamanho e coloração dos conídios (BALAJEE; MARR, 2006; BALAJEE et al., 2007).

Ainda assim, algumas poucas espécies são capazes de se reproduzir sexuadamente. Estes estados teleomórficos são caracterizados por possuírem uma estrutura, esférica e fechada, denominada cleistotécio, nela estão presentes os ascos que contêm os ascósporos (figura 2). Os teleomorfos de *Aspergillus* pertencem ao filo *Ascomycota*, ordem *Eurotiales* e família *Trichomaceae* e são incluídos nos gêneros *Chaetosartorya*, *Dichlaena*, *Emericella*, *Eurotium*, *Fennellia*, *Hemicarpenales*, *Neosartorya*, *Petromyces*, *Sclerocleista* e *Warcupiella*. (ABARCA, 2000; GUGNANI, 2003; PITT; SAMSON, 2007).

Figura 2-Microscopia de *Aspergillus glaucus*



F: Cleistotécio

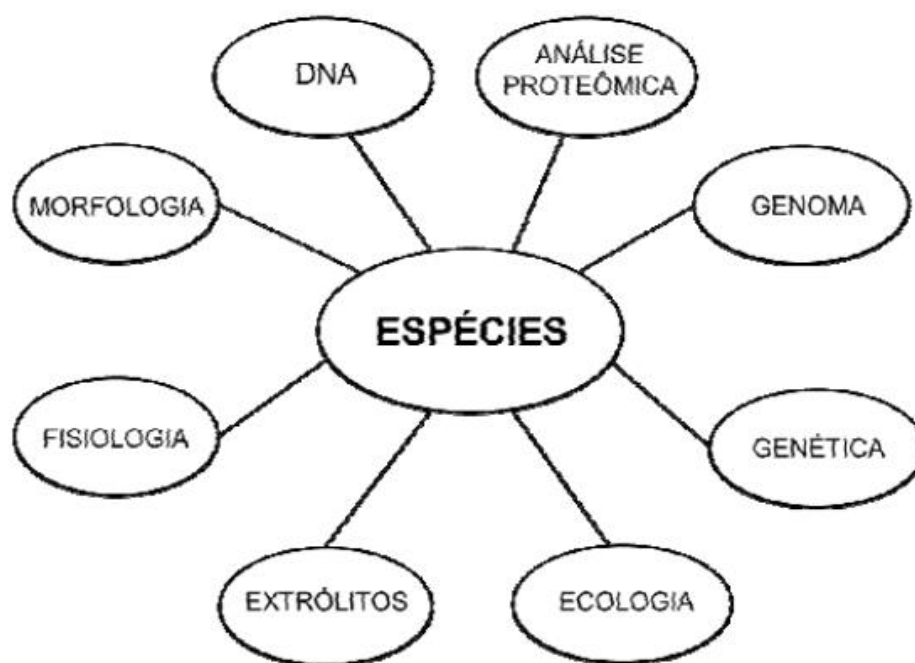
G: Ascus e ascósporos

Fonte: Retirado de Hoog, (2000).

Contudo, devido ao avanço de ferramentas moleculares, a taxonomia dos fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus* tem sido modificada de modo considerável. Desta forma, a determinação das espécies tem sido frequentemente revista, levando em consideração o “conceito polifásico” de definição de espécie, que se baseia num sequenciamento genômico, aliado a características fenotípicas e filogenéticas. Assim, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* passaram a ser tratados como complexos ou seções, onde várias espécies são

introduzidas, com diferentes potenciais patogênicos e perfis de suscetibilidade às drogas antifúngicas. Sendo assim, *Aspergillus* seção *Fumigati*, *Aspergillus* seção *Flavi* e *Aspergillus* seção *Nigri* são nomenclaturas que estão sendo utilizadas na literatura (BULPA et al., 2007; GUARRO; XAVIER; SEVERO, 2010; GONÇALVES, 2011; JOHNSON; BORMAN, 2010; DEAK; BALAJEE, 2010).

Figura 3-Esquema mostrando a integração de diferentes características que podem ser combinadas para uma classificação taxonômica polifásica de uma espécie de *Aspergillus*



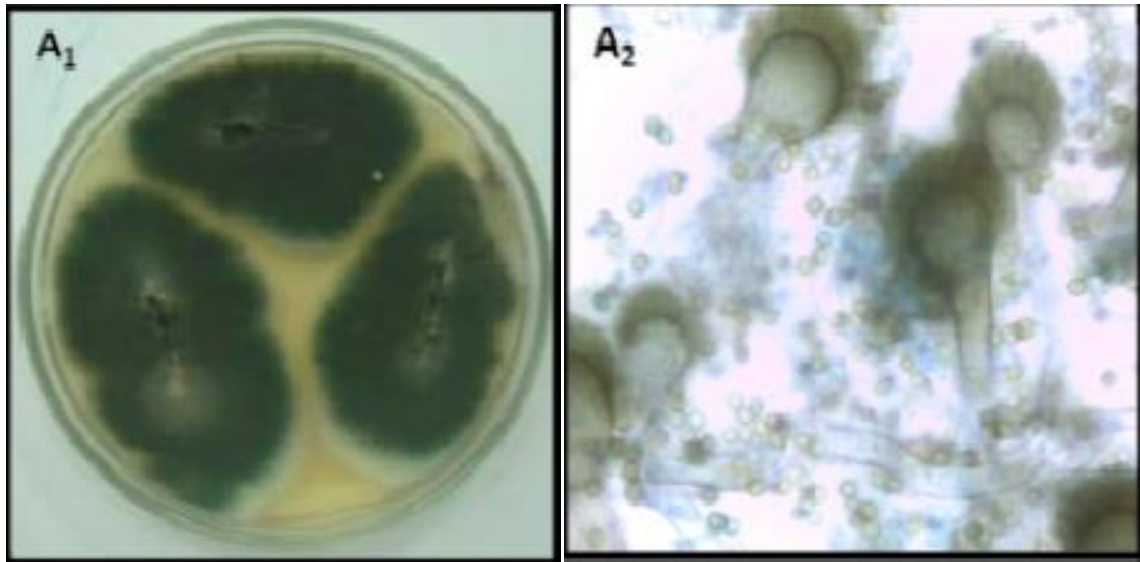
Fonte: Samson, Hong e Frisvad (2006) adaptado e atualizado.

4.1.1 *Aspergillus* seção *Fumigati*

Morfologicamente, as espécies do complexo *A. fumigatus*, pertencem ao subgênero *Fumigati*, seção *Fumigati*, e podem ser identificados macroscopicamente, por apresentarem colônias de crescimento rápido (5-7 cm após 10 dias a 28°C), onde no início do desenvolvimento, em meio ágar Czapek (CZ), apresentam coloração branca, que com o passar dos dias torna-se verde azulada ou azul acinzentada, de reverso creme, amarelo, verde escuro ou marrom escuro. Na análise microscópica, apresentam cabeças conidiais colunares, com vesículas em

forma de balão e fiálides unisseriadas, conidióforos de parede lisa com conídios globosos a subglobosos, apresentando coloração verde oliva e sua superfície ligeiramente equinulada (BALAJEE, MARR, 2006; PITT; SAMSON, 2007; SAMSON et al., 2007a, b, c).

Figura 4- Cultura de *Aspergillus fumigatus*



A1: Culturas de *Aspergillus fumigatus* com 15 dias em ágar Czapek a 28°C;

A2: conidióforos de *Aspergillus fumigatus* (1000x)

Fonte: Brandão, (2012).

Os membros do complexo Fumigati, apresentam uma coincidência das características morfológicas entre várias espécies que são geneticamente distintas (BALAJEE et al., 2007), o que torna impossível a identificação de espécies de *Aspergillus*, por procedimentos convencionais que são habitualmente utilizados em microbiologia clínica e ambiental e sem a abordagem polifásica. As ferramentas genéticas e moleculares, que envolvem a reação de cadeia catalisada pela enzima polimerase (PCR), que amplificam os genes que codificam a β -tubulina e a calmodulina (NEDEL; PASQUALOTTO, 2014), análise de sequências de ácido desoxirribonucléico (ADN) e estudos de filogenia, permitem solucionar os problemas de dados atípicos que são provenientes da grande quantidade de espécies presente neste complexo. (ALCAZAR-FUOLI et al., 2008; SERRANO et al., 2011).

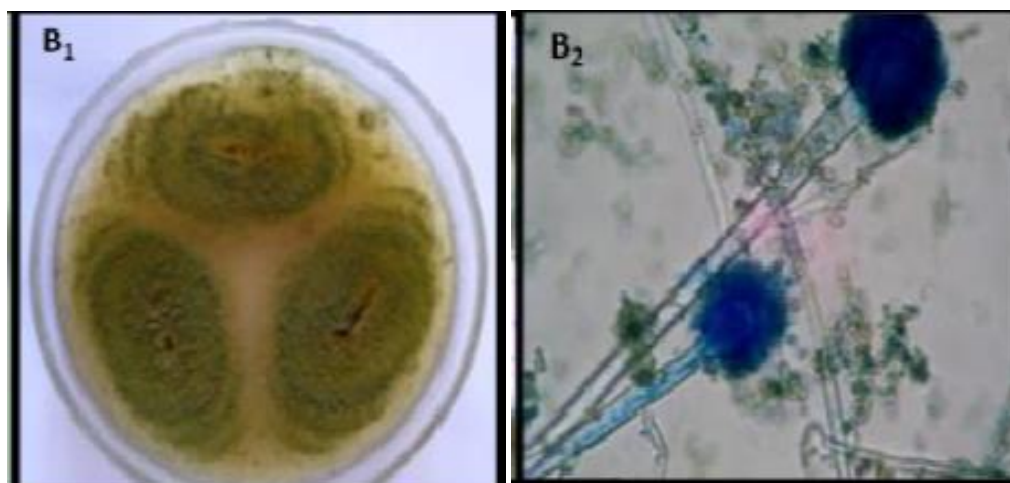
Algumas espécies que podemos encontrar desta seção: *Aspergillus fumigatus sensu stricto* e as suas espécies crípticas *Aspergillus lentulus*, *Aspergillus*

udagawae, *Aspergillus viridinutans*, *Aspergillus felis*, *Aspergillus fischeri*, *Aspergillus pseudofischeri*, *Aspergillus hiratsukae* (FRANCISCO, 2017).

4.1.2 *Aspergillus* seção *Flavi*

As espécies de *A. flavus* pertencem ao subgênero *Circumdati*, seção *Flavi*, e na sua análise macroscópica, apresentam colônias de crescimento moderadamente rápido (3,5-5 cm após 10 dias a 28°C) ou rápido (6-7,5 cm após 10 dias a 28°C), em CZ, que tem aspecto flocoso a granular, casualmente apresentam sulcos radiais, ou de aspecto cerebriforme, coloração verde amarelada ou, raramente, marrom amarelado com reverso creme ou rosado; ainda produção, em várias cepas, de esclerócio marrom escuro a preto, sobretudo em colônias jovens. Nas características microscópicas, podem-se observar cabeças conidiais unisseriadas e bisseriadas, especialmente radiais; vesículas esféricas com métulas que ocupam praticamente toda a sua superfície; estipes hialinos ou de coloração marrom pálida, além de apresentar superfície de aspecto rugoso, e conídios globosos ou elipsóides, apresentando superfície lisa ou ligeiramente rugosa (PITT; SAMSON, 2007; SAMSON et al., 2007a, b, c).

Figura 5- Cultura de *Aspergillus flavus*



B1: Culturas de *Aspergillus flavus* com 15 dias em ágar Czapek a 28°C;

B2: conidióforos de *Aspergillus flavus* (400x)

Fonte: Brandão (2012).

A. flavus possui uma ampla distribuição geográfica, assim como outras espécies de *Aspergillus*, em especial áreas cultivadas. É um fungo saprófita capaz de sobreviver em várias fontes de nutrientes orgânicos, como árvores, madeira em decomposição, algodão, forragem animal, pilhas de composto, cadáveres de animais e grãos armazenados. (HEDAYATI et al., 2007).

Estes fungos são produtores de aflatoxinas, agentes naturais cancerígenos e ácido ciclopiazônico, que é tóxico para um grande número de animais e humanos (YU et al., 2005; HEDAYATI et al., 2007).

Ao lado de *A. fumigatus*, *A. Flavus* é o segundo causador mais comum de aspergilose invasiva e não invasiva em seres humanos e animais (DENNING et al., 2003). *A. novoparasiticus* (GONÇALVES et al., 2012), *A. mottae*, *A. Sergi*, *A. transmontanensis* (SOARES et al., 2012), são exemplos de espécies pertencentes a esta seção.

4.1.3 *Aspergillus* seção *Nigri*

Assim como *A. Flavus*, as espécies de *A. niger* pertencem ao subgênero *Circumdati*, porém são classificados na seção *Nigri*, onde apresentam, macroscopicamente, colônias de crescimento rápido (4,5-6,5cm em 10 dias a 28°C) em CZ, frequentemente com sulcos radiais, granulares, inicialmente de coloração branca a amarela, tornando-se preta com reverso creme ou amarelo pálido. Na sua microscopia, são diferenciados por cabeças conidiais bisseriadas e radiais; vesícula esférica e métulas ocupando toda a sua superfície; estipes de parede espessa, lisa, podendo ser hialina ou pigmentada da cor marrom ou amarelo pálido; e conídios de coloração marrom, globosos ou subglobosos, de paredes espessas e ornamentadas (PITT; SAMSOM, 2007; SAMSOM et al., 2007a, b, c).

Esta seção engloba várias espécies de grande importância na micologia de alimentos, micologia médica e biotecnologia (SAMSON et al., 2007). Muitas das espécies presentes nesta seção são largamente utilizadas na indústria, por exemplo, para a produção de ácidos orgânicos, como os ácidos cítrico e glucônico que são produzidos por *Aspergillus niger* (ABARCA et al., 2004).

Alguns dos fungos pertencentes a esta seção são: *A. eucalypticola*, *A. fijiensis*, *A. indologenus* e *A. neoniger* (VARGA et al., 2011).

Figura 6-Cultura de *Aspergillus niger*



C1: Culturas de *Aspergillus niger* (C1) com 15 dias em ágar Czapek a 28°C;

C2: Conidióforos de *Aspergillus niger* (400x).

Fonte: Brandão (2012).

4.2 Aspectos epidemiológicos

O gênero *Aspergillus* encontra-se distribuído mundialmente e em vários habitats (SAMSON et al., 2014), sem predileção geográfica (THOMPSON; PATTERSON, 2008). A maioria das espécies pode ser encontrada na água, solo, em plantas em decomposição, poeira doméstica, alguns alimentos, especialmente os não cozidos e em alguns materiais de construção, ambientes hospitalares, onde os sistemas de ventilação e sistemas de água indevidamente limpos agravam sua propagação (DIMOPOULOS et al., 2012; PARAMYTHIOTOU et al., 2014; SABINO et al., 2014; GREGG; KAUFFMAN, 2015; PAULUSSEN et al., 2016).

A. fumigatus é o agente etiológico responsável por aproximadamente 90% dos casos de aspergilose; porém, vem crescendo cada vez mais o número de outras espécies causando a doença, incluindo *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. nidulans*, e *A. ustus* (LAI et al., 2009; LASS-FLÖRL, 2009; ALANGADEN, 2011).

É estimada a ocorrência de mais de 200.000 casos de aspergilose por ano no mundo, com uma taxa de mortalidade que varia entre 30 e 95% (BROWN et al., 2012). Através de estudos, foi demonstrado que 76% dos doentes apresentam o pulmão como único foco infecção, caracterizando o aspecto invasivo do fungo, e

10% dos doentes apresentam evidência em mais de um local de infecção (STEINBACH et al., 2013).

Em um estudo realizado numa universidade do Texas, entre 1989 e 2008, onde foram realizadas autópsias de indivíduos com problemas hematológicos, foi observado que houve um aumento na incidência das infecções invasivas causadas por *Aspergillus*, até o ano de 2003, porém entre 2003 e 2008, houve uma diminuição do número de casos, ocorrido pela diminuição de taxa de autópsia devido essencialmente a problemas econômicos, porém o diagnóstico precoce de infecções fúngicas invasivas em pacientes com doença hematológica maligna, antes de morrer, também pode explicar estes resultados. (LEWIS et al., 2013).

Em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica, a epidemiologia da aspergilose invasiva (AI) é pobremente documentada, apesar das altas taxas de mortalidade, que se aproximam de 100% (CORNILLET et al., 2006; ALANGADEN, 2011).

Estudos realizados nos Estados Unidos demonstraram uma taxa de mortalidade de 80% em pacientes receptores Transplante de Medula Óssea com aspergilose (LIN et al., 2003).

Pacientes que apresentam leucemia aguda, a taxa de mortalidade é de 30% a 40% dos casos de AI; em transplantados de órgãos sólidos, a taxa de mortalidade é de 60% (MASCHMEYER, 2007; SEGAL, 2009).

Na realidade brasileira, os dados sobre a epidemiologia da aspergilose invasiva nos pacientes hospitalizados são escassos, principalmente devido à dificuldade no diagnóstico precoce da doença (XAVIER, 2008;)

Muitos casos de aspergilose não são detectados antes do óbito do paciente. Somado a isso, o Brasil apresenta uma baixa frequência de necropsias pulmonares e, conseqüentemente, conclusões sobre a incidência da AI e da condição epidemiológica não são confiáveis (XAVIER, 2008; SILVA et al., 2009).

4.3 Patogenia

A aspergilose invasiva é uma infecção de caráter oportunista, onde a doença e sua progressão são resultantes tanto do crescimento e virulência do fungo quanto da resposta do hospedeiro (DAGENAIS, KELLER, 2009).

Dentro desse contexto, os fatores que estão relacionados ao hospedeiro cumprem um papel de grande importância como causa da aspergilose. O *Aspergillus* é um fungo oportunista e que raramente causa alguma doença em hospedeiros imunocompetentes, pois o sistema imune elimina o agente agressor prevenindo uma possível infecção (PAULUSSEN et al., 2016). Quando ocorre a supressão do sistema imunitário, o hospedeiro torna-se suscetível ao desenvolvimento da infecção (RATHEE et al., 2013; WARRIS, 2014).

Na população que apresenta um alto risco, o *A. fumigatus* se tornou o agente patogênico mais frequente de doença fúngica invasiva, causando aspergilose pulmonar invasiva (API). Ficou evidenciado que a virulência de *A. fumigatus* tem um caráter multifatorial, onde este desenvolveu mecanismos para auxiliar sua sobrevivência no ambiente. Dentre esses mecanismos estão presentes: termotolerância, secreção de proteases extracelulares, extenso metabolismo secundário. Alguns desses fatores também colaboram para sua sobrevivência no hospedeiro humano, contudo contribuem para os resultados devastadores que estão associados à API. (BEN-AMI; LEWIS; KONTOYIANNIS, 2010).

4.3.1 Fatores de virulência

Dentre os fatores de virulência associados aos fungos do gênero *Aspergillus*, está presente a alta capacidade de esporulação destes, que podem dispersar desde 1 a 100 esporos/mm³ no ar, que, juntamente ao tamanho reduzido (2-3µm) que apresentam, podem atingir facilmente os alvéolos pulmonares por inalação, fazem com que a via respiratória seja uma das principais vias de entrada no organismo e o pulmão seu principal local de infecção. (WALSH; REX, 2002).

Seus conídios são bem adaptados para dispersão pelo ar devido ao seu pequeno tamanho e hidrofobicidade permitindo que estes permaneçam suspensos no ar atmosférico por longos períodos. A ornamentação desses conídios, como paredes equinuladas, observadas em *A. fumigatus*, aumenta a resistência ao ar, melhorando a dispersão; a pigmentação desses conídios também corrobora, fazendo com que essas estruturas permaneçam viáveis por um período prolongado mesmo em condições adversas; (O'GORMAN, 2011).

A melanina que é encontrada em espécies de *Aspergillus* protege os conídios de fatores ambientais adversos, como: calor, radiação ultravioleta (UV) e

variações de pH, demonstrando vantagem de sobrevivência tanto no organismo humano como ambiente, atuando assim como um importante fator de virulência, pois compromete a resposta imune ao patógeno, constituindo, portanto como um fator fundamental para que ocorra invasão tecidual (CHAI et al., 2010; LOUSSERT et al., 2010).

Foi demonstrado que a perda desse pigmento conidial, em *A. fumigatus* e *A. niger*, se relaciona com uma maior susceptibilidade as espécies reativas de oxigênio que são liberados por leucócitos polimorfos nucleares e monócitos durante a resposta imune do hospedeiro (JAHN et al., 2000).

A germinação dos conídios de *Aspergillus* a 37°C correlaciona-se com sua patogenicidade, onde *A. fumigatus* é mais termotolerante que outras espécies causadoras da aspergilose, crescendo bem a 37°C e tolerando temperaturas acima de 50°C. Especula-se que esse crescimento em temperaturas elevadas pode ocasionar uma expressão de genes de virulência que conferem benefícios adicionais, porém faltam evidências para esta teoria (ARAUJO; RODRIGUES, 2004; DAGENAIS; KELLER, 2009).

Em um estudo realizado, foi feita uma comparação entre o crescimento de *A. fumigatus*, *A. flavus* e *A. niger*, que demonstrou existir uma correlação entre a taxa de germinação e prevalência de patógenos. Essas espécies apresentaram taxas de germinação semelhantes em temperaturas até 30°C, porém ocorreu uma diferença quando a temperatura foi elevada para 37°C e 41°C. Nesta última temperatura, a germinação de *A. fumigatus* aumentou, enquanto a germinação de *A. flavus* diminuiu em 45%, já *A. niger* não apresentou germinação. Ficando assim demonstrado que a temperatura ideal para crescimento de *A. flavus* e *A. niger* é em torno de 30°C. O estudo sugere que a temperatura desempenha um papel crucial na seleção de espécies patogênicas de *Aspergillus*, sendo *A. fumigatus* a espécie mais capaz de se adaptar a mudanças extremas nas condições ambientais (ARAUJO; RODRIGUES, 2004).

A produção de toxinas, que são consideradas metabolitos secundários, é outro mecanismo de virulência de *Aspergillus*. As principais micotoxinas que são produzidas por *A. fumigatus* são: gliotoxina, fumagilina, ácido helvolico, fumitremorgina A e hemolisina Asp; onde a mais relevante dessas é a gliotoxina (PAULUSSEN et al., 2016).

A gliotoxina modifica a resposta imunitária e é capaz de induzir a apoptose de vários tipos de células. Sua atividade imunossupressora afeta a circulação dos neutrófilos e inibe a fagocitose (SCHARF et al., 2012).

Já a fumagilina e o ácido helvolico, assim como a gliotoxina, em altas concentrações, são inibidores ciliares, que atuam diminuindo sua frequência de batimentos (KHOUFACHE et al., 2007).

Além das substâncias secretadas, são produzidas enzimas extracelulares, que permitem que o fungo danifique algumas barreiras naturais do hospedeiro para captar nutrientes essenciais necessários para sua perpetuação. (GUARRO et al., 2010)

Uma grande variedade de proteases é produzida por *A. fumigatus*, incluindo metaloproteases, proteases alcalinas, aspartil protease, serina protease e elastases, além da produção de lipases (ALP; ARIKAN, 2008). Estas enzimas apresentam um duplo papel, atuam tanto na digestão para assimilação de substratos protéicos, como atuam como ferramentas químicas abrindo caminho para que as hifas invadam os tecidos do hospedeiro, funcionando assim, como mais um fator de virulência do fungo (OKUMURA; OGAWA; NIKAI, 2004; DAGENAIS; KELLER, 2009; KRISHNAN et al., 2009).

4.3.2 Fatores de risco do hospedeiro

A neutropenia prolongada é normalmente definida como o fator de risco mais predominante para a AI e é frequentemente o resultado de terapias altamente citotóxicas. Pacientes não neutropênicos, comumente aqueles em terapia com corticosteróides, como pacientes transplantados alogênicos que recebem corticosteróides para profilaxia ou tratamento de doença do enxerto contra o hospedeiro (DAGENAIS; KELLER, 2009), pacientes que apresentam neoplasia hematológica, em particular com leucemia aguda, receptores de células-tronco, receptores de órgãos sólidos, doentes tratados com altas doses de corticosteróides, também estão suscetíveis à AI (RICHARDSON; WARNOCK, 2003).

A infecção pode acometer cerca de 15,1% dos pacientes que receberam transplante de células tronco hematogênicas alógenas e 2% dos que receberam células autólogas (BADIEE; ALBORZI, 2009). Essas infecções acometem de 2-26%

dos pacientes submetidos à transplante de medula óssea e entre 1-15 % dos pacientes que receberam algum órgão. (SINGH, 2005).

Outras causas também podem predispor o aparecimento da AI, tais como a diabetes, alcoolismo, infecções por citomegalovírus, administração de antibióticos via parenteral (RAJA;SINGH, 2006), e AIDS (CUERVO-MALDONADO et al., 2010). Foram relatados em estudos realizados, casos de AI que ocorreram após infecção grave por H1N1 (Wauters et al., 2012) e após o uso de oxigenação por membrana extracorpórea (PARCELL et al., 2014).

O aparecimento da infecção é facilitado por alguns fatores, principalmente, o número de esporos inalados e a diminuição dos mecanismos de defesa imunitária, onde a diminuição do número ou a alteração da função dos macrófagos alveolares e/ou dos neutrófilos polimorfonucleares constitui uma causa determinante nas formas invasivas (BELLOCCHIO et al., 2005).

A maior parte dos pacientes que apresentam aspergilose são do sexo masculino, apesar do gênero ainda não é considerado como um fator predisponente; esse fato pode ser justificado pelos hábitos, como tabagismo e alcoolismo, ocupação e promiscuidade (HSU et al., 2010; NAM et al., 2010).

Possíveis fatores de risco como: predisposição genética e os fatores ambientais, também têm sido estudados. Geneticamente observou-se, por exemplo, que polimorfismo no fator de necrose tumoral – α (TNF- α) está associada a risco aumentado de AI (CUNHA et al., 2013). A produção elevada de interleucina 10 (IL-10) também tem sido associada. Relacionados aos fatores ambientais, tem sido descrito que os transplantes que ocorrem fora dos quartos com fluxo laminar têm risco acrescido de infecção por *Aspergillus* e que os meses de verão são mais propícios para ocorrência de AI (KRIENGKAUYKIAT; ITO; DADWAL, 2011).

4.4 Aspectos clínicos

O termo aspergilose inclui inúmeras manifestações que dependem do local acometido, gravidade da infecção e do estado imunológico do hospedeiro. As vias aéreas superiores, pulmões e estruturas circundantes são os locais de infecção mais frequentemente envolvidos, apesar de ter sido relatado infecção por *Aspergillus* envolvendo vários outros órgãos. É de suma importância o reconhecimento do espectro das doenças invasivas atribuídas à aspergilose, como aspergilose

pulmonar invasiva, aspergilose traqueobrônquica, aspergilose pulmonar necrosante crônica, aspergilose nasossinusal invasiva. (THOMPSON; PATTERSON, 2008)

Aspergilose pulmonar invasiva (API) é a forma mais comum de doença invasiva. É uma forma de pneumonia causada por *Aspergillus* spp., mais comumente o *A. fumigatus*. Cada vez mais vem sendo observada em pacientes críticos internados em unidades de terapia intensiva e em receptores de transplantes de órgãos (WALSH et al., 2008; KOSMIDIS; DENNING, 2015).

Os sintomas são muito semelhantes aos de outros patógenos causadores de pneumonia, iniciando-se frequentemente com febre persistente, porém este sintoma nem sempre está presente em doentes gravemente imunodeprimidos, onde sua ausência tem sido relatada em casos de terapêutica corticosteróide. Outros sintomas podem incluir tosse, produtiva ou não, dispnéia e ocasionalmente hipóxia. Numa fase mais tardia da infecção podem ocorrer hemoptises e dor torácica pleurítica (GREGG; KAUFFMAN, 2015).

Um histórico cuidadoso deve ser realizado naqueles pacientes que apresentam risco para API, uma vez que estes são, normalmente, incapazes de montar uma resposta imunológica e, portanto, não apresentam uma resposta febril. Os sintomas de hemoptise e dor torácica pleurítica servem como um lembrete para a natureza angioinvasiva da aspergilose (THOMPSON; PATTERSON, 2008).

A aspergilose traqueobrônquica causada por *Aspergillus* spp. é uma manifestação considerada incomum, em contraste com o envolvimento do parênquima pulmonar (PATEL, 2010). Ocorre em pacientes com imunodepressão grave (KANG, 2011) e apresenta mortalidade alta, relatada em mais de 70% dos casos (KRENKE; GRABCZAK 2011).

Os termos aspergilose traqueobrônquica pseudomembranosa invasiva, aspergilose traqueobrônquica necrosante, aspergilose ulcerativa traqueobrônquica, aspergilose traqueobronquite e aspergilose brônquica obstrutiva têm sido utilizados para se referir ao mesmo processo, ou seja, a aspergilose traqueobrônquica (PATEL, 2010).

A sua apresentação clínica é variável e inespecífica, o que acarreta no mascaramento e atraso de seu diagnóstico. Os sintomas mais frequentes são tosse, febre e dispnéia, e a hemoptise é relatada em 11,5% a 26,3% dos casos (WU et al., 2010; FERNÁNDEZ-RUIZ et al., 2012).

A aspergilose traqueobrônquica pode ser classificada em quatro formas diferentes de acordo com as características broncoscópicas das lesões intraluminais: tipo I – infiltração superficial; tipo II – envolvimento de camada completa, uma forma mais profunda com acometimento da cartilagem e destruição das vias aéreas; tipo III – obstrutiva (com oclusão da via aérea maior ou igual a 50% por pseudomembranas, tecido de granulação polipóide ou tecido necrótico); tipo IV – forma mista (coexistência de duas ou mais formas) (WU et al., 2010). O tipo II parece estar mais relacionado à maior agressividade e pior prognóstico (WU et al., 2010).

O diagnóstico requer exame broncoscópico e está associado a desfechos desfavoráveis, pois seu reconhecimento é frequentemente retardado (DUTKIEWICZ; HAGE, 2012). Os achados característicos da broncoscopia incluem: ulceração traqueobrônquica, nódulos, pseudomembranas, placa ou escara. Deve-se desconfiar de traqueobronquite por *Aspergillus* em pacientes que apresentam imagem sugestiva e hemoptise ou em pacientes com atelectasia lobar ou chiado unilateral, que tem como consequência tampões de muco espesso contendo *Aspergillus* que encham as vias aéreas centrais. (PATTERSON; STREK, 2014).

A aspergilose necrotizante é uma forma incomum de aspergilose e o seu diagnóstico costuma ser tardio devido sua similaridade com outras infecções pulmonares, como por exemplo, a tuberculose (CHABI et al., 2015).

Ocorre geralmente em pacientes doentes com condições pulmonares subjacentes, como é o caso de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), sarcoidose, infecções por micobactérias. Contudo, condições de imunossupressão também são um fator desencadeante (SCHWEER et al., 2014; KOSMIDIS; DENNING, 2015). Apresenta uma evolução lenta, entre um e até três meses, com características radiológicas pleitrópicas marcantes (cavitação, nódulos e consolidação progressiva com formação de abscessos), mostrando hifas visíveis no tecido pulmonar destruído ou inferidas a partir de investigações microbiológicas (isto é, antígeno positivo de *Aspergillus*) (SMITH; DENNING, 2011).

Os sintomas apresentados pelos pacientes incluem tosse prolongada e recorrente, dispnéia, perda de peso e menos frequentemente, hemoptises e hemorragias pulmonares. (SCHWEER et al., 2014).

Aspergilose nasossinusal invasiva é uma infecção potencialmente fatal que ocorre frequentemente em pacientes com imunodeficiência (BISWAS et al., 2013),

em menos de 4 semanas de curso da doença (ARUNALOEK et al., 2009) e está freqüentemente associada à API. Os sintomas incluem: febre, tosse, epistaxe, descarga nasal e cefaléia, podendo haver lesões ulcerativas. Nos pacientes com doença progressiva a infecção pode se espalhar devido a proximidade para os seios paranasais, palato, órbita ou cérebro (DIAS, 2008).

Outros sinais sugestivos dessa doença são: inchaço facial assimétrico, proptose e anormalidades do nervo craniano (refletindo doença orbitária ou envolvimento do seio cavernoso), isquemia do palato e erosão óssea (SEGAL, 2009).

A infecção do seio maxilar pode acarretar a invasão direta no palato, com necrose e perfuração na cavidade oral ou perfuração do septo nasal. Nos seios etmoidais e frontais a infecção pode se estender diretamente para as veias que drenam essas estruturas para os seios cavernosos, resultando em déficits nos nervos cranianos e trombose da artéria carótida interna. A aspergilose dos seios etmoidais também pode implicar em infecção periorbitária e extensão nos músculos extra-oculares e no globo ocular, resultando em perda de visão (WALSH, et al., 2008).

O diagnóstico e tratamento precoces, que inclui debridamento cirúrgico agressivo, antifúngicos e modificação de fatores de risco, são pontos essenciais para a melhora da aspergilose nasossinusal invasiva (SÜSLÜ et al., 2009).

Ainda que o desbridamento cirúrgico exerça um papel importante no manejo da sinusite invasiva por *Aspergillus* e possa ser uma forma de cura, em algumas circunstâncias, ressecções extensas ou debridamentos cirúrgicos repetidos podem elevar a morbimortalidade entre pacientes neutropênicos. Avanços na cirurgia para infecção maxilar e etmoidal podem ser de grande valor e podem evitar cirurgias mais desfigurantes. A reversão da imunossupressão é um fator fundamental para o sucesso dessa infecção e para a prevenção da extensão e disseminação para o sistema nervoso central (SNC) (WALSH et al., 2008).

4.5 Diagnóstico

A aspergilose, principalmente em pacientes imunodeprimidos, nunca foi uma infecção de fácil diagnóstico, dado que suas manifestações clínicas de infecção não são específicas, e mesmo com o desenvolvimento de métodos mais modernos

continua a ser um dilema (STEINBACH, 2013). Dentre os principais fatores responsáveis por essa dificuldade de diagnóstico, estão: a falta de sintomas específicos, o fato de raramente haver o isolamento do fungo em indivíduos que estão colonizados e a falta de testes com a sensibilidade e a precisão necessária para que ocorra um diagnóstico precoce (LACKNER; LASS-FLÖRL, 2013). A falta de conhecimento de que estão surgindo novas populações de risco, também é um fator que pode atrasar o diagnóstico (PATTERSON; STREK, 2014). Ao lado da dificuldade em identificar os sintomas, está a ocasional falta dos mesmos. Onde se deve levar em conta o histórico do paciente e os seus fatores de risco (THOMPSON; PATTERSON, 2011).

Os principais critérios disponíveis para o diagnóstico da aspergilose são (DE PAUW et al. 2008):

- Critérios biológicos: realização de microscopia direta, isolamento, cultura e identificação;
- Evidência histopatológica;
- Evidência clínica e radiológica;
- Características clínicas do hospedeiro (como neutropenia, febre persistente, entre outros);
- Testes imunológicos, sorológicos e moleculares.

Foram definidos três níveis de probabilidade para auxiliar o diagnóstico de infecções fúngicas invasivas: provadas, onde há exigência de diagnóstico histopatológico, não sendo necessária a determinação de presença de fatores do hospedeiro ou fatores clínicos; prováveis, onde deve haver a presença simultânea de um fator do hospedeiro, uma característica clínica e evidência micológica; e possíveis, quando apenas inclui fatores do hospedeiro e evidência clínica associada, sem suporte micológico (DE PAUW et al., 2008).

É recomendado que o diagnóstico da aspergilose invasiva seja feito por meio de, concomitantemente, exame cultural e histopatológico a partir de tecidos ou fluidos. Somente em casos que isso não seja possível deve ser utilizado um método de identificação molecular (PATTERSON et al., 2016).

4.5.1 Diagnóstico laboratorial

O método mais simples de diagnóstico é a observação microscópica de uma amostra, porém este método é muito pouco específico e ocorre muito facilmente confusão com outro fungo filamentoso. Além disso, não há distinção entre colonização e infecção (BARTON, 2013).

O exame histológico é considerado um excelente método de confirmação para diagnóstico da aspergilose, porém muitas vezes a obtenção da amostra não é viável devido ao caráter invasivo do procedimento e o estado grave que se encontra o paciente, podendo pôr em risco a sua saúde (BARTON, 2013; CADENA; THOMPSON; PATTERSON, 2016).

O diagnóstico através de cultura é um método simples e barato, entretanto é um método muito demorado e menos eficaz, pois depende da qualidade da amostra e, além disso, está sujeito a contaminações (SWOBODA-KOPEĆ et al., 2016). Há uma possibilidade significativa de resultados falso-negativos, principalmente em amostras de pacientes aos quais já foi administrada a terapêutica antifúngica ou se amostra não tiver sido coletada do local infectado. Dessa forma, uma cultura negativa, não exclui a possibilidade de aspergilose quando este foi o único teste realizado. No entanto é importante fazê-lo sempre que possível, para que se possa identificar e diferenciar espécies de *Aspergillus* de outros fungos filamentosos (PATTERSON et al., 2016).

Os testes imunológicos surgiram numa tentativa de responder à necessidade de existir métodos diagnósticos que não exigissem a coleta de amostras do paciente (CADENA et al., 2016). Assim, faz-se uso do teste de ELISA, Platelia *Aspergillus* EIA®, que consiste num ensaio imunoenzimático de tipo sanduíche, para a detecção do antígeno galactomanana (GM) de *Aspergillus*, que permite que seja feito um diagnóstico não invasivo da infecção. Este teste funciona a partir de um anticorpo monoclonal de rato, direcionado contra o epítipo predominante do antígeno da parede celular do fungo (STEINBACH, 2013). Apesar de este método ter a vantagem de ser um método não invasivo, pode não ser a melhor opção em diagnósticos tardios principalmente se já houver uma terapêutica antifúngica a decorrer, uma vez que vai influenciar a sensibilidade do teste (SWOBODA-KOPEĆ et al., 2016).

A GM é um polissacarídeo presente na parede fúngica que é liberado na corrente sanguínea do hospedeiro durante a infecção (MIGOTT et al., 2017), e sua detecção tem se mostrado um teste útil para o diagnóstico precoce da aspergilose invasiva, apresentando sensibilidade de 94% e especificidade de 98%, embora tenha apresentado um alto nível de resultados falso-positivos (~ 10-15%) (BADIEE et al, 2009).

A detecção de (1→3) - β -D-glucano também é um método não invasivo e muito útil, mesmo em doentes sob terapêutica antifúngica (SWOBODA-KOPEĆ et al., 2016). Este glucano é um polissacarídeo presente na parede celular fúngica e pode ser detectado para confirmar a presença de um fungo na amostra, entretanto não diferencia o gênero e por isso não é específico para *Aspergillus* (MURRAY et al., 2010).

Testes moleculares, a partir da reação de cadeia catalisada pela enzima polimerase (PCR), têm demonstrado uma grande sensibilidade, contudo não são amplamente utilizados devido à exigência de equipamento especializado e uniformização de protocolos (STEINBACH, 2013). Um grande benefício da utilização de PCR é que, embora a GM não possa identificar espécies infectantes de *Aspergillus*, a PCR poderia ser adaptada para identificação ao nível da espécie e também possivelmente inferir padrões gerais de susceptibilidade antifúngica (STEINBACH, 2013). Estudos continuam a ser realizados acerca destes métodos e já existem alguns dados que demonstram o seu benefício quando combinado com a detecção de GM (CADENA et al., 2016).

Apesar dos testes com PCR apresentarem resultados promissores, este método ainda não é recomendado para uso rotineiro na prática clínica porque poucos ensaios foram padronizados e validados, e o papel do teste de PCR no manejo do paciente não está estabelecido (PATTERSON et al., 2016).

O método de Espectrometria de Massa por Tempo de Voo - Ionização/Dessorção a Laser Assistida por Matriz (inglês: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time Of Flight Mass Spectrometry), MALDI-TOF MS, é outro método de identificação de fungos em ascensão nos últimos anos. Esse método tem como princípio geral uma rápida foto-volatilização e ionização de uma amostra biológica embebida em um ácido orgânico (matriz) após bombardeamento por um laser de radiação ultravioleta (UV), seguido pela análise da relação massa/carga (m/z) do espectro de massa (MS) gerado da amostra ionizada após seu percurso

num tubo de voo. O MALDI-TOF MS analisa o conteúdo protéico de células tratadas ou intactas de microrganismos sob a forma de um espectro que é considerado como uma impressão digital específica de um microrganismo (COSTA, 2016).

4.5.2 Diagnóstico por imagem

Achados radiológicos isolados por si só não caracterizam o diagnóstico de aspergilose, porém quando associados aos achados clínicos e micológicos, tornam-se de grande valor. A radiografia e tomografia computadorizada de alta resolução (TCAR) estão dentre as técnicas mais utilizadas para a pesquisa de imagens (DE PAUW et al., 2008; KOSMIDIS; DENNING, 2015).

Os achados típicos da TCAR de tórax, em pacientes suspeitos de terem AI, incluem múltiplos nódulos e o sinal do halo, que é principalmente observado em pacientes neutropênicos no início da infecção, geralmente na primeira semana, apresentando-se como uma zona opaca devido à hemorragia em torno do nódulo pulmonar, podendo evoluir com cavitação, constituindo-se como sinal do crescente aéreo, outro sinal radiológico frequentemente encontrado (GOLDENBERG; PRICE, 2008; KOSMIDIS; DENNING, 2015).

4.6 Aspectos terapêuticos

As três principais famílias de antifúngicos usadas no tratamento de infecções fúngicas são: polienos, representados pela anfotericina B (e suas diferentes formulações); azóis, com vários derivados como itraconazol, fluconazol, voriconazol, posaconazol; e as equinocandinas, como a caspofungina, micafungina e anidulafungina (ALASTRUEY-IZQUIERDO, 2015).

O tratamento da aspergilose deve variar de acordo com o tipo de manifestação. Uma terapêutica prolongada deve ser realizada nos casos de aspergilose pulmonar necrotizante crônica (PATTERSON et al., 2016). Na aspergilose pulmonar invasiva, é de grande importância para um prognóstico favorável que se inicie o tratamento o mais rapidamente possível (CADENA et al., 2016). Na terapêutica para os casos de aspergilose pulmonar invasiva, a indicação de primeira linha é voriconazol. Terapias alternativas são realizadas com anfotericina B lipossomal (PATTERSON et al., 2016). Contudo quando a aspergilose afeta o

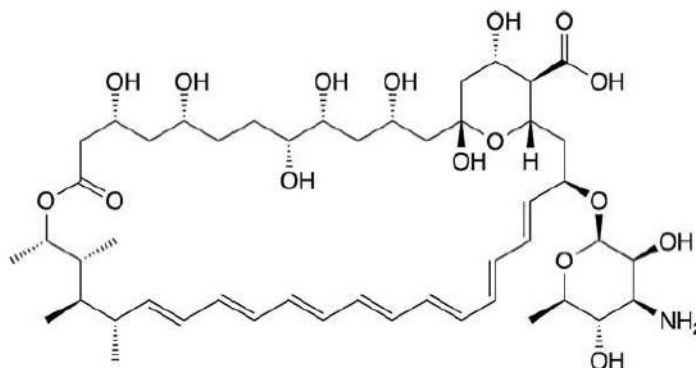
sistema nervoso central (SNC), por vezes, a cirurgia também demonstra ter um bom resultado como tratamento (CADENA et al., 2016).

Em pacientes que estejam fazendo uso de terapêutica imunossupressora, é de extrema importância que seja feita a redução significativa da dose dessa medicação, ou até excluir esse medicamento, quando possível, antes do início da terapêutica antifúngica. Já o tratamento da aspergilose concomitante com quimioterapia, deve ser uma decisão avaliada pelos vários especialistas levando em conta as condições e riscos de cada doente (PATTERSON et al., 2016).

A anfotericina B (AMB) é um antifúngico da classe dos polienos e apresenta um grande espectro de ação que abrange a maioria dos fungos filamentosos e leveduriformes (KHAN; EI-CHARABATYB; EI-SAYEGH, 2015).

A sua estrutura molecular básica é composta por um anel lactâmico, com uma cadeia lipofílica rígida contendo sete ligações duplas conjugadas, e uma porção hidrofílica (figura 7) (CARVALHO, 2013).

Figura 7 - Estrutura química da Anfotericina B



Fonte: Lewis (2010)

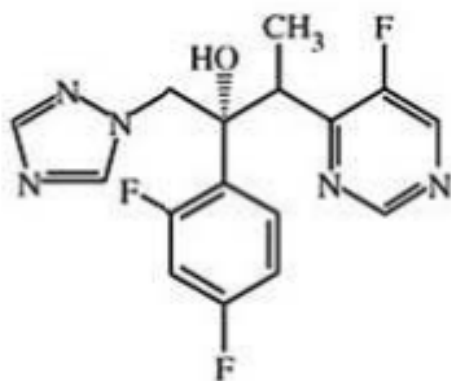
A sua administração ocorre por perfusão intravenosa, pois a AMB não é absorvida oralmente. (PATTERSON et al., 2016).

O seu mecanismo de ação baseia-se, fundamentalmente na sua afinidade de ligação ao ergosterol, o principal esterol constituinte da membrana celular fúngica que é essencial para manter a integridade da mesma (LATGÉ, 2009). Estas ligações levam à formação de canais de íons na membrana celular que destroem a integridade osmótica da membrana celular fúngica e levam à perda dos constituintes intracelulares e à morte celular (CHANDRASEKAR, 2010; MURRAY et al, 2010).

Para o tratamento da maioria das infecções fúngicas, formulações lipídicas, como a anfotericina B lipossomal, são uma alternativa melhor que a anfotericina B convencional, pois são mais seguras e possuem uma eficácia equivalente ou superior (HAMILL, 2013). A necessidade de desenvolver estas formulações lipídicas derivou da toxicidade da AMB, principalmente a sua marcada nefrotoxicidade e as reações relacionadas com a sua perfusão (HAMILL, 2013; PATTERSON et al., 2016).

O voriconazol é considerado o antifúngico de primeira escolha para o tratamento de aspergilose invasiva, apresenta um largo espectro de ação, contra a maioria das espécies de *Aspergillus*, e muitos outros fungos filamentosos, sendo usado para infecções oportunistas em doentes imunocomprometidos (GREGG; KAUFFMAN, 2015; KHAN et al., 2015).

Figura 8 - Estrutura química do Voriconazol



Fonte: Thompson e Patterson (2010).

Seu mecanismo de ação consiste na interferência da biossíntese do ergosterol que se encontra presente na membrana dos fungos, inibindo a enzima 14- α -desmetilase da CYP 450 que converte lanosterol em ergosterol. Essa inibição resulta num acúmulo de metilesteróis tóxicos e leva à alteração do crescimento e replicação da membrana celular fúngica (THOMPSON; PATTERSON, 2010; KHAN et al., 2015; CADENA et al., 2016).

A terapêutica recomendada inicia-se com uma dose de 6 mg/kg de 12 em 12 horas, apenas duas vezes, seguido de uma diminuição da dose para 4 mg/kg de 12

em 12 horas. A sua administração pode ser oral ou intravenosa (IV). (KHAN et al., 2015; PATTERSON et al., 2016).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As infecções fúngicas invasivas têm aumentado significativamente em consequência do aumento da população mais susceptível a estas infecções. Uma vez que se trata de um fungo ubiquitário, *Aspergillus* é facilmente inalado pelo homem, porém em pacientes imunocompetentes raramente causa infecção.

A disponibilidade de novos antifúngicos nos últimos anos proporcionou aos clínicos mais opções, aumentando o uso desses compostos não apenas para tratamento da infecção diagnosticada, mas também como tratamento profilático, empírico ou preventivo.

A terapia precoce é fundamental para um resultado bem-sucedido, no entanto o diagnóstico permanece difícil e o conhecimento da apresentação clínica e dos fatores de risco pelos profissionais de saúde é altamente necessário, uma vez que esse conhecimento pode levar a uma maior suspeita por parte destes, permitindo assim o diagnóstico precoce.

Há necessidade de continuar a investigar e a desenvolver novos métodos, nomeadamente de diagnóstico e tratamento, para que se possam ultrapassar as dificuldades que esta infecção ainda acarreta.

REFERÊNCIAS

- ABARCA, M. Lourdes et al. Taxonomy and significance of black aspergilli. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 86, n. 1, p. 33-49, 2004.
- ABARCA, M^a Lourdes. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. **Rev Iberoam Micol**, v. 17, n. 3, p. S79-S84, 2000.
- ALANGADEN, George J. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention. **Infectious disease clinics of North America**, v. 25, n. 1, p. 201-225, 2011.
- ALASTRUEY-IZQUIERDO, Ana et al. Susceptibility test for fungi: clinical and laboratorial correlations in medical mycology. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 57-64, 2015.
- ALCAZAR-FUOLI, Laura et al. Aspergillus section Fumigati: antifungal susceptibility patterns and sequence-based identification. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 52, n. 4, p. 1244-1251, 2008.
- ALDERSON, Joel W. et al. Disseminated aspergillosis following infliximab therapy in an immunosuppressed patient with Crohn's disease and chronic hepatitis C: a case study and review of the literature. **Medscape General Medicine**, v. 7, n. 3, p. 7, 2005.
- ALP, Sehnaz; ARIKAN, Sevtap. Investigation of extracellular elastase, acid proteinase and phospholipase activities as putative virulence factors in clinical isolates of Aspergillus species. **Journal of basic microbiology**, v. 48, n. 5, p. 331-337, 2008.
- APERIS, Georgios; ALIVANIS, Polichronis. Posaconazole: a new antifungal weapon. **Reviews on recent clinical trials**, v. 6, n. 3, p. 204-219, 2011.
- ARAUJO, Ricardo; RODRIGUES, Acacio Gonçalves. Variability of germinative potential among pathogenic species of Aspergillus. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 9, p. 4335-4337, 2004.
- ARUNALOKE, Chakrabarti et al. Fungal Rhinosinusitis: A Categorization and Definitional Schema Addressing Current Controversies. **QNRS Repository**, v. 2011, n. 1, p. 3063, 2011.
- ASKEW, David S.; KONTOYIANNIS, Dimitrios P.; CLEMONS, Karl V. Advances against aspergillosis: biology, host response, diagnosis and treatment. **Mycopathologia**, v. 178, n. 5-6, p. 321-324, 2014.
- BADDLEY, John W. et al. Aspergillosis in Intensive Care Unit (ICU) patients: epidemiology and economic outcomes. **BMC infectious diseases**, v. 13, n. 1, p. 29, 2013.

BADIEE, Parisa et al. Study on invasive fungal infections in immunocompromised patients to present a suitable early diagnostic procedure. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 97-102, 2009.

BADIEE, Parisa; ALBORZI, Abdolvahab. Detection of *Aspergillus* species in bone marrow transplant patients. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 4, n. 08, p. 511-516, 2010.

BALAJEE, S. A. et al. *Aspergillus* species identification in the clinical setting. **Studies in mycology**, v. 59, p. 39-46, 2007.

BALAJEE, S. Arunmozhi; MARR, Kieren A. Phenotypic and genotypic identification of human pathogenic aspergilli. 2006.

BARBERÁN, Jose; MENSA, Jose. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Revista iberoamericana de micología**, v. 31, n. 4, p. 237-241, 2014.

BARTON, Richard C. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis: from diagnosis to prediction of outcome. **Scientifica**, v. 2013, 2013.

BEISSWENGER, Christoph; HESS, Christian; BALS, Robert. *Aspergillus fumigatus* conidia induce interferon- β signalling in respiratory epithelial cells. **European Respiratory Journal**, v. 39, n. 2, p. 411-418, 2012.

BELLOCCHIO, S. et al. Immunity to *Aspergillus fumigatus*: the basis for immunotherapy and vaccination. **Medical mycology**, v. 43, n. sup1, p. 181-188, 2005.

BEN-AMI, Ronen; LEWIS, Russell E.; KONTOYIANNIS, Dimitrios P. Enemy of the (immunosuppressed) state: an update on the pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* infection. **British journal of haematology**, v. 150, n. 4, p. 406-417, 2010.

BINDER, Ulrike; LASS-FLORL, Cornelia. New insights into invasive aspergillosis- from the pathogen to the disease. **Current pharmaceutical design**, v. 19, n. 20, p. 3679-3688, 2013.

BISWAS, S. S. et al. Acute invasive fungal rhinosinusitis: our experience in immunocompromised host. **Mymensingh medical journal: MMJ**, v. 22, n. 4, p. 814-819, 2013.

BRANDÃO, Ildnay de Souza Lima. Análise comparativa entre métodos laboratoriais para diagnóstico da aspergilose pulmonar. 2012.

BROWN, Gordon D. et al. Hidden killers: human fungal infections. **Science translational medicine**, v. 4, n. 165, p. 165rv13-165rv13, 2012.

BULPA, Pierre; DIVE, A.; SIBILLE, Yves. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **European Respiratory Journal**, v. 30, n. 4, p. 782-800, 2007.

CABRAL, Fernanda C. et al. Semi-invasive pulmonary aspergillosis in an immunosuppressed patient: a case report. **Cases journal**, v. 2, n. 1, p. 40, 2009.

CADENA, Jose; THOMPSON, George R.; PATTERSON, Thomas F. Invasive aspergillosis: current strategies for diagnosis and management. **Infectious Disease Clinics**, v. 30, n. 1, p. 125-142, 2016.

CARVALHO, LIC. **Aspergillus e aspergilose – desafios no combate da doença**. 2013. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado, Universidade Fernando Pessoa.

CHABI, M. L. et al. Pulmonary aspergillosis. **Diagnostic and interventional imaging**, v. 96, n. 5, p. 435-442, 2015.

CHAI, Louis YA et al. Aspergillus fumigatus conidial melanin modulates host cytokine response. **Immunobiology**, v. 215, n. 11, p. 915-920, 2010.

CHANDRASEKAR, Pranatharthi. Management of invasive fungal infections: a role for polyenes. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 66, n. 3, p. 457-465, 2010.

CORNILLET, A. et al. Comparison of epidemiological, clinical, and biological features of invasive aspergillosis in neutropenic and nonneutropenic patients: a 6-year survey. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, n. 5, p. 577-584, 2006.

COSTA, Ane Francyne et al. Novas abordagens no diagnóstico laboratorial de micoses: o sistema MALDI-TOF MS. 2016.

CUERVO-MALDONADO, Sonia Isabel et al. Actualización en Aspergilosis con énfasis en Aspergilosis invasora. **Infectio**, v. 14, p. 131-144, 2010.

CUNHA, Cristina et al. Human genetic susceptibility to invasive aspergillosis. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 8, p. e1003434, 2013.

DAGENAIS, Taylor RT; KELLER, Nancy P. Pathogenesis of Aspergillus fumigatus in invasive aspergillosis. *Clinical microbiology reviews*, v. 22, n. 3, p. 447-465, 2009.

DE HOOG, Gerrit S. et al. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS), 2000.

DE PAUW, Ben et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer/invasive fungal infections cooperative group and the national institute of allergy and infectious diseases mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group. **Clinical infectious diseases**, v. 46, n. 12, p. 1813-1821, 2008.

DEAK, Eszter; BALAJEE, S. Arunmozhi. Molecular methods for identification of Aspergillus species. In: **Aspergillosis: from diagnosis to prevention**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 75-85.

Denning D. Introduction. . In: **Aspergillosis: from diagnosis to prevention**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 75-85.

DENNING, David W. et al. Chronic cavitary and fibrosing pulmonary and pleural aspergillosis: case series, proposed nomenclature change, and review. **Clinical infectious diseases**, v. 37, n. Supplement_3, p. S265-S280, 2003.

DIAS, Viviane Maria de Carvalho Hessel. Aspergilose invasiva em receptores de transplante de células-tronco hematopoiéticas. 2008.

DIMOPOULOS, George et al. Invasive aspergillosis in the intensive care unit. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1272, n. 1, p. 31-39, 2012.

DIMOPOULOS, George et al. Post-operative Aspergillus mediastinitis in a man who was immunocompetent: a case report. **Journal of medical case reports**, v. 4, n. 1, p. 312, 2010.

DUTKIEWICZ, Radek; HAGE, Chadi A. Aspergillus infections in the critically ill. **Proceedings of the American Thoracic Society**, v. 7, n. 3, p. 204-209, 2010.
FERNANDES, Natália Henrique. Produção de xilanase e xilosidase por Aspergillus versicolor. 2012.

FERNÁNDEZ-RUIZ, Mario et al. Aspergillus tracheobronchitis: report of 8 cases and review of the literature. **Medicine**, v. 91, n. 5, p. 261-273, 2012.

FRANCISCO, Mariana Rato da Conceição Monteiro. **Caracterização de isolados de Aspergillus provenientes de ambiente hospitalar: identificação molecular e determinação dos padrões de susceptibilidade aos antifúngicos**. 2017. Tese de Doutorado.

GOLDENBERG, Simon; PRICE, Nicholas. Opportunistic fungal lung infections. **Medicine**, v. 36, n. 6, p. 295-299, 2008.

GONÇALVES, Sarah S. et al. Aspergillus novoparasiticus: a new clinical species of the section Flavi. **Sabouraudia**, v. 50, n. 2, p. 152-160, 2012.

GONÇALVES, Sarah Santos. Caracterização genotípica e fenotípica de isolados clínicos e ambientais pertencentes a aspergillus seção flavi. 2011.

GREGG, Kevin S.; KAUFFMAN, Carol A. Invasive aspergillosis: epidemiology, clinical aspects, and treatment. In: **Seminars in respiratory and critical care medicine**. Thieme Medical Publishers, 2015. p. 662-672.

GUARRO, Josep; XAVIER, Melissa Orzechowski; SEVERO, Luiz Carlos. Differences and similarities amongst pathogenic Aspergillus species. In: **Aspergillosis: from diagnosis to prevention**. Springer Netherlands, 2010. p. 7-32.

GUAZZELLI, Luciana Silva et al. Aspergillus fumigatus fungus ball in the pleural cavity. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 38, n. 1, p. 125-132, 2012.

GUGNANI, Harish C. Ecology and taxonomy of pathogenic aspergilli. **Front Biosci**, v. 8, n. 1-3, p. 346, 2003.

HAMILL, Richard J. Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity. **Drugs**, v. 73, n. 9, p. 919-934, 2013.

HEDAYATI, M. T. et al. *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. **Microbiology**, v. 153, n. 6, p. 1677-1692, 2007.

HSU, Li-Yang et al. Galactomannan testing of bronchoalveolar lavage fluid is useful for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in hematology patients. **BMC infectious diseases**, v. 10, n. 1, p. 44, 2010.

JACOBS, Frédérique et al. An observational efficacy and safety analysis of the treatment of acute invasive aspergillosis using voriconazole. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 31, n. 6, p. 1173-1179, 2011.

JAHN, Bernhard et al. Interaction of human phagocytes with pigmentless *Aspergillus conidia*. **Infection and immunity**, v. 68, n. 6, p. 3736-3739, 2000.

JOHNSON, Elizabeth M.; BORMAN, Andrew M. The importance of conventional methods: microscopy and culture. In: **Aspergillosis: from diagnosis to prevention**. Springer Netherlands, 2010. p. 54-73.

KANG, Eun-Young. Large airway diseases. **Journal of thoracic imaging**, v. 26, n. 4, p. 249-262, 2011.

KAUFFMAN, Carol A. et al. (Ed.). **Essentials of clinical mycology**. New York: Springer, 2011.

KHAN, Asif; EL-CHARABATY, Elie; EL-SAYEGH, Suzanne. Fungal infections in renal transplant patients. **Journal of clinical medicine research**, v. 7, n. 6, p. 371, 2015.

KHOUFACHE, Khaled et al. Verruculogen associated with *Aspergillus fumigatus* hyphae and conidia modifies the electrophysiological properties of human nasal epithelial cells. **BMC microbiology**, v. 7, n. 1, p. 5, 2007.

KLICH, Maren A. Identification of common *Aspergillus* specie. **Centraalbureau voor schimmelcultures**, 2002.

KOSMIDIS, Chris; DENNING, David W. Republished: the clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. **Postgraduate medical journal**, v. 91, n. 1077, p. 403-410, 2015.

KOUSHA, M.; TADI, R.; SOUBANI, A. O. Pulmonary aspergillosis: a clinical review. **European Respiratory Review**, v. 20, n. 121, p. 156-174, 2011.

KRENKE, Rafal; GRABCZAK, Elzbieta M. Tracheobronchial manifestations of *Aspergillus* infections. **The Scientific World Journal**, v. 11, p. 2310-2329, 2011.

KRIENGKAUYKIAT, Jane; ITO, James I.; DADWAL, Sanjeet S. Epidemiology and treatment approaches in management of invasive fungal infections. **Clinical epidemiology**, v. 3, p. 175, 2011.

KRISHNAN, Suganthini; MANAVATHU, Elias K.; CHANDRASEKAR, Pranatharthi H. Aspergillus flavus: an emerging non-fumigatus Aspergillus species of significance. **Mycoses**, v. 52, n. 3, p. 206-222, 2009.

LACAZ, C. da S. et al. Tratado de micologia médica. 2002.

LACKNER, Michaela; LASS-FLÖRL, Cornelia. Up-date on diagnostic strategies of invasive aspergillosis. **Current pharmaceutical design**, v. 19, n. 20, p. 3595-3614, 2013.

LAI, Chih-Cheng et al. Current challenges in the management of invasive fungal infections. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 14, n. 2, p. 77-85, 2008.

LASS-FLÖRL, Cornelia. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. **Mycoses**, v. 52, n. 3, p. 197-205, 2009.

LATGÉ, Jean-Paul et al. (Ed.). **Aspergillus fumigatus and Aspergillosis**. Washington, DC: ASM Press, 2009.

LEWIS, Russell E. et al. Epidemiology and sites of involvement of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: a 20-year autopsy study. **Mycoses**, v. 56, n. 6, p. 638-645, 2013.

LEWIS, Russell E. Polyene antifungal agents. In: **Aspergillosis: From Diagnosis to Prevention**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 281-305.

LIN, Swu-Jane; SCHRANZ, Jennifer; TEUTSCH, Steven M. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 3, p. 358-366, 2003.

LOUSSERT, Céline et al. In vivo biofilm composition of Aspergillus fumigatus. **Cellular microbiology**, v. 12, n. 3, p. 405-410, 2010.

MARTINS-DINIZ, José Nelson et al. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, p. 398-405, 2005.

MASCHMEYER, Georg; HAAS, Antje; CORNELLY, Oliver A. Invasive aspergillosis. **Drugs**, v. 67, n. 11, p. 1567-1601, 2007.

MEERSSEMAN, Wouter et al. Invasive aspergillosis in the intensive care unit. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 2, p. 205-216, 2007.

MIGOTT, Gustavo Bellani et al. Perfil clínico e epidemiológico de pacientes com suspeita de aspergilose pulmonar em hospital do estado Rio Grande do Sul,

Brasil. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 7, n. 1, p. 34-39, 2017.

MINAMI, Paulo S. Micologia: métodos laboratoriais de diagnóstico das micoses. 2003.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, Michael A. Microbiologia médica (6ª). **Elsevier**, 2010.

NAM, Hae-Seong et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: a review of 43 cases. **International journal of infectious diseases**, v. 14, n. 6, p. e479-e482, 2010.

NEDEL, Wagner L.; PASQUALOTTO, Alessandro C. Treatment of infections by cryptic *Aspergillus* species. **Mycopathologia**, v. 178, n. 5-6, p. 441-445, 2014.

O'GORMAN, Céline M. Airborne *Aspergillus fumigatus* conidia: a risk factor for aspergillosis. **Fungal biology reviews**, v. 25, n. 3, p. 151-157, 2011.

OKUMURA, Yoshiyuki; OGAWA, Kenji; NIKAI, Toshiaki. Elastase and elastase inhibitor from *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*. **Journal of medical microbiology**, v. 53, n. 5, p. 351-354, 2004.

OLIVEIRA, Jeferson Carvalhaes de. Tópicos em Micologia Médica. 4. ed. Rio de Janeiro: Controllab, 2014. p. 95-102

PARAMYTHIOTOU, Elisabeth et al. Invasive fungal infections in the ICU: how to approach, how to treat. **Molecules**, v. 19, n. 1, p. 1085-1119, 2014.

PARCELL, Benjamin J. et al. Invasive pulmonary aspergillosis post extracorporeal membrane oxygenation support and literature review. **Medical mycology case reports**, v. 4, p. 12-15, 2014.

PARTRIDGE-HINCKLEY, Kimberly et al. Infection control measures to prevent invasive mould diseases in hematopoietic stem cell transplant recipients. **Mycopathologia**, v. 168, n. 6, p. 329-337, 2009.

PATEL, Neelam et al. Tracheobronchial manifestations of aspergillosis. **Journal of bronchology & interventional pulmonology**, v. 17, n. 1, p. 45-53, 2010.

PATTERSON, Karen C.; STREK, Mary E. Diagnosis and treatment of pulmonary aspergillosis syndromes. **Chest**, v. 146, n. 5, p. 1358-1368, 2014.

PATTERSON, Thomas F. et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, v. 63, n. 4, p. e1-e60, 2016.

PAULUSSEN, Caroline et al. Ecology of aspergillosis: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. *Microbial biotechnology*, v. 10, n. 2, p. 296-322, 2017.

PERSON, Anna K. et al. *Aspergillus niger*: an unusual cause of invasive pulmonary aspergillosis. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 7, p. 834-838, 2010.

PITT, J. I.; SAMSON, R. A. Nomenclatural considerations in naming species of *Aspergillus* and its teleomorphs. **Studies in mycology**, v. 59, p. 67-70, 2007.

PRAKASH, R.; JHA, S. N. Basics of the genus *Aspergillus*. **International Journal of Research in Botany**, v. 4, n. 2, p. 26-30, 2014.

RAJA, Nadeem Sajjad; SINGH, Nishi Nihar. Disseminated invasive aspergillosis in an apparently immunocompetent host. **JOURNAL OF MICROBIOLOGY IMMUNOLOGY AND INFECTION**, v. 39, n. 1, p. 73, 2006.

RATHEE, Permender et al. Immunosuppressants: A Review. **The Pharma Innovation**, v. 1, n. 12, 2013.

Richardson MD, Warnock DW. *Fungal Infection Diagnosis and Management*, 3 Ed. Victoria: Blackwell Publishing Asia Pty Ltd; 2003. p. 166-200.

ROBBINS, Nicole et al. Hsp90 governs dispersion and drug resistance of fungal biofilms. **PLoS pathogens**, v. 7, n. 9, p. e1002257, 2011.

ROTHER, E. T. Revisão sistemática x revisão narrativa. *Acta Paulista de Enfermagem*, São Paulo, v. 20, n. 2, p. v-vi, jun. 2007.

SABINO, Raquel et al. Molecular screening of 246 Portuguese *Aspergillus* isolates among different clinical and environmental sources. **Medical mycology**, v. 52, n. 5, p. 519-529, 2014.

SAMSON, Robert A. et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in mycology**, v. 78, p. 141-173, 2014.

SAMSON, Robert A. et al. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Fumigati* and its teleomorph *Neosartorya*. *Studies in Mycology*, v. 59, p. 147-203, 2007(a).

SAMSON, Robert A. et al. Diagnostic tools to identify black aspergilli. **Studies in Mycology**, v. 59, p. 129-145, 2007(b).

SAMSON, R. A. et al. The species concept in *Aspergillus*: recommendations of an international panel. **Studies in Mycology**, v. 59, p. 71, 2007(c).

SAMSON, Robert A.; HONG, Seung-Beom; FRISVAD, Jens C. Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. *Medical Mycology*, v. 44, n. Supplement_1, p. S133-S148, 2006.

SCHARF, Daniel H. et al. Biosynthesis and function of gliotoxin in *Aspergillus fumigatus*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 93, n. 2, p. 467-472, 2012.

SCHWEER, K. E. et al. Chronic pulmonary aspergillosis. **Mycoses**, v. 57, n. 5, p. 257-270, 2014.

SEGAL, Brahm H. Aspergillosis. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 18, p. 1870-1884, 2009.

SERRANO, Rita et al. Rapid identification of *Aspergillus fumigatus* within the section *Fumigati*. **BMC microbiology**, v. 11, n. 1, p. 82, 2011.

SIDRIM, José Júlio Costa; ROCHA, Marcos Fábio Gadelha. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Guanabara Koogan, 2004.

SILVA, Eduardo Felipe Barbosa et al. Aspergilose pulmonar necrotizante crônica. **J Bras Pneumol**, v. 35, n. 1, p. 95-98, 2009.

SINGH, N. Invasive aspergillosis in organ transplant recipients: new issues in epidemiologic characteristics, diagnosis, and management. **Medical Mycology**, v. 43, n. sup1, p. 267-270, 2005.

SMITH, N. L.; DENNING, D. W. Underlying conditions in chronic pulmonary aspergillosis including simple aspergilloma. **European Respiratory Journal**, v. 37, n. 4, p. 865-872, 2011.

SOARES, Célia et al. Three new species of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from almonds and maize in Portugal. **Mycologia**, v. 104, n. 3, p. 682-697, 2012.

STEINBACH, William J. Are we there yet? Recent progress in the molecular diagnosis and novel antifungal targeting of *Aspergillus fumigatus* and invasive aspergillosis. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 10, p. e1003642, 2013.

SÜSLÜ, Ahmet Emre et al. Acute invasive fungal rhinosinusitis: our experience with 19 patients. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 266, n. 1, p. 77, 2009.

SWOBODA-KOPEĆ, E. et al. Diagnosis of invasive pulmonary Aspergillosis. In: **Respiratory Treatment and Prevention**. Springer, Cham, 2016. p. 27-33.

THOMPSON, George R.; PATTERSON, Thomas F. Pulmonary aspergillosis. In: **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**. New York: Thieme Medical Publishers, c1994-, 2008. p. 103-110.

THOMPSON, George R.; PATTERSON, Thomas F. Azoles. In: *Aspergillosis: from diagnosis to prevention*. Springer Netherlands, 2010. p. 7-32.

THOMPSON, George R.; PATTERSON, Thomas F. Pulmonary aspergillosis: recent advances. In: **Seminars in respiratory and critical care medicine**. © Thieme Medical Publishers, 2011. p. 673-681.

VARGA, J. et al. New and revisited species in *Aspergillus* section *Nigri*. **Studies in Mycology**, v. 69, p. 1-17, 2011.

Walsh, T. J. & Rex, J. H. Infectious disease clinics of North America. New York, EUA, 2002.

WALSH, Thomas J. et al. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. **Clinical infectious diseases**, v. 46, n. 3, p. 327-360, 2008.

WARRIS, Adilia. The biology of pulmonary Aspergillus infections. **Journal of Infection**, v. 69, p. S36-S41, 2014.

WAUTERS, Joost et al. Invasive pulmonary aspergillosis is a frequent complication of critically ill H1N1 patients: a retrospective study. **Intensive care medicine**, v. 38, n. 11, p. 1761-1768, 2012.

WINGARD, John R.; HSU, Jack. Clinical Manifestations of Invasive Pulmonary Aspergillosis. In: **Aspergillosis: From Diagnosis to Prevention**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 381-389, 2010.

WU, N. et al. Isolated invasive Aspergillus tracheobronchitis: a clinical study of 19 cases. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 16, n. 6, p. 689-695, 2010.

Xavier, M.O. *Aplicações e limitações do método de detecção do antígeno galactomanana para o diagnóstico de aspergilose*. 2008. 104f. Tese de doutorado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2008.

YU, Jiujiang et al. Aspergillus flavus genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases. *Revista iberoamericana de micología*, Barcelona, v. 22, n. 4, p. 194-202, 2005.